

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 17, 1979, pp. 71–76

Bestimmung von Li, Na, K, Mg und Ca mit einer mechanisierten Mikromethode der Flammen-Spektrometrie

Mechanisierte Mikromethode („Injektionsmethode“) der Flammen-Spektrometrie (Atomabsorption-Atomemission) für die Bestimmung der Serumelektrolyte und der Spurenelemente (Fe, Cu, Zn), Teil I

Von H. Berndt und E. Jackwerth*

Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie

(Eingegangen am 26. Juni/4. September 1978)

Zusammenfassung: Durch eine dosierte Lösungszugabe in der Flammen-Atomabsorptionsspektrometrie und -Emissionsspektrometrie kann die Mengenempfindlichkeit dieser Bestimmungsmethoden bei gleichbleibender Konzentrationsempfindlichkeit um etwa eine Zehnerpotenz gesteigert werden. Hierdurch wird der Probenbedarf, etwa an Serum, erheblich reduziert. Die Serumelektrolyte und einige Elementspuren können mit dieser Technik relativ einfach und schnell aus nur wenigen Mikrolitern Serum bestimmt werden. Eine inzwischen erfolgte Automatisierung dieser Mikroprobenaufgabe („Injektionsmethode“) ermöglicht den weitgehenden Ausschluß individueller Fehler und verkürzt die Analysenzeit bei größeren Analysenzahlen deutlich. Im ersten Teil dieser Arbeit wird die Bestimmung der Serumelektrolyte und des Lithiums bei einem Serumbedarf von nur 5 µl bis 20 µl beschrieben.

Determination of Li, Na, K, Mg and Ca with a mechanised flame photometric micro-method

Mechanised micro-method („injection method“) of flame photometry (atomic absorption – atomic emission) for the determination of serum electrolytes and trace elements (Fe, Cu, Zn); Part I.

Summary: By introduction of the analysis solution in measured quantities in atomic absorption and atomic emission spectrometry, the quantity sensitivity of these methods can be increased by an order of magnitude, while the concentration sensitivity remains unchanged. The required volume of sample (serum) is thereby considerably reduced. Using this method, the serum electrolytes and certain trace elements can be determined simply and quickly in only a few microlitres of serum. The automation of this micro-sample application („injection method“) largely abolishes individual errors, and markedly shortens the time for the analysis of large series of samples. The first part of this paper describes the determination of serum electrolytes and lithium, using only 5–20 µl of serum.

Einleitung

In der Serumanalyse sind heute zwei Tendenzen zu beobachten: Die eine ist darauf gerichtet, die Probenmenge für jede Einzelbestimmung sehr gering zu halten, um aus den verfügbaren kleinen Serumproben jeweils möglichst viele unterschiedliche Analysen ausführen zu können. Die zweite bemüht sich um die Automatisierung der Analysenabläufe. Hierdurch sollen individuelle Fehler verhindert, die Analysenzeit gleichzeitig verkürzt und damit Kosten gesenkt werden.

Die Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) hat inzwischen einen technischen Stand erreicht, der eine weitgehende

Automatisierung erlaubt. So lassen sich nahezu alle Geräte der mittleren und gehobenen Preisklasse mit Probenwechslern betreiben; die Ausgabe der Analysenwerte erfolgt bei diesen Gerätetypen bereits in Konzentrationenwerten über einen Drucker. Auch der bei Multi-Elementanalysen erforderliche Wechsel von Hohlkathodenlampen sowie der Vortrieb des Monochromators auf die Position einer neuen Elementlinie wird inzwischen auch bei kommerziellen Geräten über Stellmotoren u. dgl. vollmechanisiert durchgeführt.

* Neue Anschrift: Ruhr-Universität Bochum, Gebäude NC 04, Postfach 102148, 4630 Bochum 1.

Ein genereller Nachteil der Flammen-AAS ist der verhältnismäßig hohe Lösungsverbrauch von 0,5 bis 1,5 ml für die Einzelbestimmung eines Elementes. In Abbildung 1 ist das AAS-Signal eines Elementes bei 1,5 ml Lösungsverbrauch mit üblicher (A) sowie mit einer stark erhöhten Schreibergeschwindigkeit (B) aufgezeichnet. Abbildung 1 (B) zeigt dabei deutlich, daß von den eingesetzten 1,5 Millilitern Probenlösung bereits die ersten angesaugten 100 μ l ausreichen, um nahezu die endgültige Höhe des stationären Signals zu bewirken. 100 μ l der Probenlösung genügen also, um die Konzentrationsempfindlichkeit der Flammen-AAS voll auszuschöpfen. Da hierbei aber weniger als ein Zehntel der Probenmenge verbraucht wird, steigt die Mengeneempfindlichkeit der Flammen-AAS gleichzeitig um etwa eine Zehnerpotenz.

Das Arbeiten mit kleinen Probenvolumina in der Flammen-AAS ist verhältnismäßig einfach: Ein kleiner Teflontrichter (etwa 100 μ l Inhalt) wird über ein kurzes Stück des Ansaugschlauches mit dem Zerstäuber des AAS-Gerätes verbunden. Die zu analysierende Serumverdünnung wird mit einer Mikroliterpipette (40 . . . 100 μ l) in diesen Trichter „injiziert“ (Injektionsmethode) (1,2). Dabei wird die Ansaugleistung des Zerstäubers so eingestellt, daß die aus der Pipette ausgestoßene Flüssigkeitsmenge zusammenhängend abgesaugt wird (100 μ l-Injektionen: Saugrate 4 . . . 7 ml/min; 50 μ l-Injektionen: Saugrate etwa 4 ml/min). Die Messung wird möglichst ungedämpft durchgeführt, da Impulssignale, wie sie hier entstehen, mit ansteigender Dämpfung schnell kleiner werden (1).

Wie wir in einer früheren Arbeit gezeigt haben, kann diese „Mikroprobenaufgabe“ auch mechanisiert werden (3). Inzwischen gibt es dazu einen kommerziellen Probenwechsel-Automaten (Perkin-Elmer AS 3), mit dem die Injektion von 50 oder 100 μ l-Probenvolumina an nahezu jedem AAS-Gerät ausgeführt werden kann. Bei diesem Gerät folgt jeder Probendosierung ein Spülschritt mit 300 oder 600 μ l Wasser; die Dauer eines kompletten

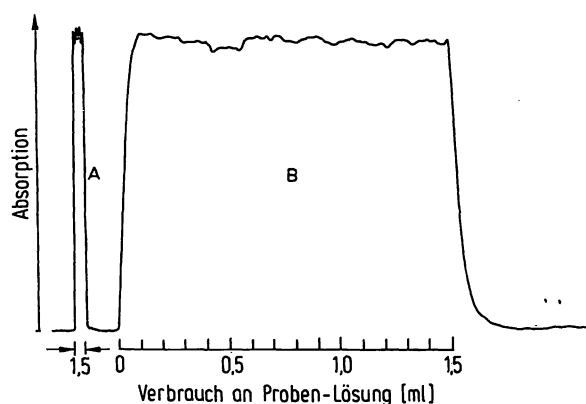


Abb. 1. Schreiberaufzeichnung eines AAS-Signals mit 1,5 ml Lösungsverbrauch:

A normale Schreibergeschwindigkeit: 2 cm/min
B zeitlich stark aufgelöst: 60 cm/min

Meßzyklus beträgt 14 s. Meßtechnik und Maßparameter sind bei manueller und automatischer Injektion identisch. In Verbund mit einigen AAS-Geräten ist zusätzlich zur analogen Schreiberauswertung auch die elektronische Peakhöherfassung möglich.

Die nachfolgend beschriebenen Messungen wurden mit einem Prototypen dieses Probenautomaten in Kombination mit dem AAS-Gerät Modell 430 (Perkin-Elmer) und Druckerausgabe der Werte vorgenommen. Zur Kontrolle wurden die Meßsignale parallel dazu über den Analogausgang des AAS-Gerätes an einem Schreiber aufgezeichnet. Die Auswertung erfolgte jedoch ausschließlich über die ausgedruckten Peakhöhen.

Experimenteller Teil

Die Richtigkeit aller Untersuchungen wurde mit handelsüblichen Kontrollseren auf Humanbasis und Rinderalbuminbasis überprüft. Kontrollseren haben gegenüber Patientenseren den Vorteil, daß für ein bestimmtes Element eine Vielzahl von Analysendaten – häufig nach verschiedenen Methoden bestimmt – als Referenzwerte zur Verfügung stehen.

1. Bestimmung von Na, K, Mg und Ca aus 20 bzw. 10 μ l Serum durch Atomabsorption

Na, K, Mg und Ca können gemeinsam aus einer (1+50)-Verdünnung der Seren atomabsorptionsspektrometrisch bestimmt werden, wenn man der Verdünnungslösung 2,5 g/l Sr^{2+} zufügt (4). Der Zusatz an Strontium beseitigt bzw. mindert den Einfluß von Phosphat auf die Calcium-Bestimmung und setzt zugleich die störende Ionisierung von Natrium und Kalium in der Luft/Acetylen-Flamme herab (5).

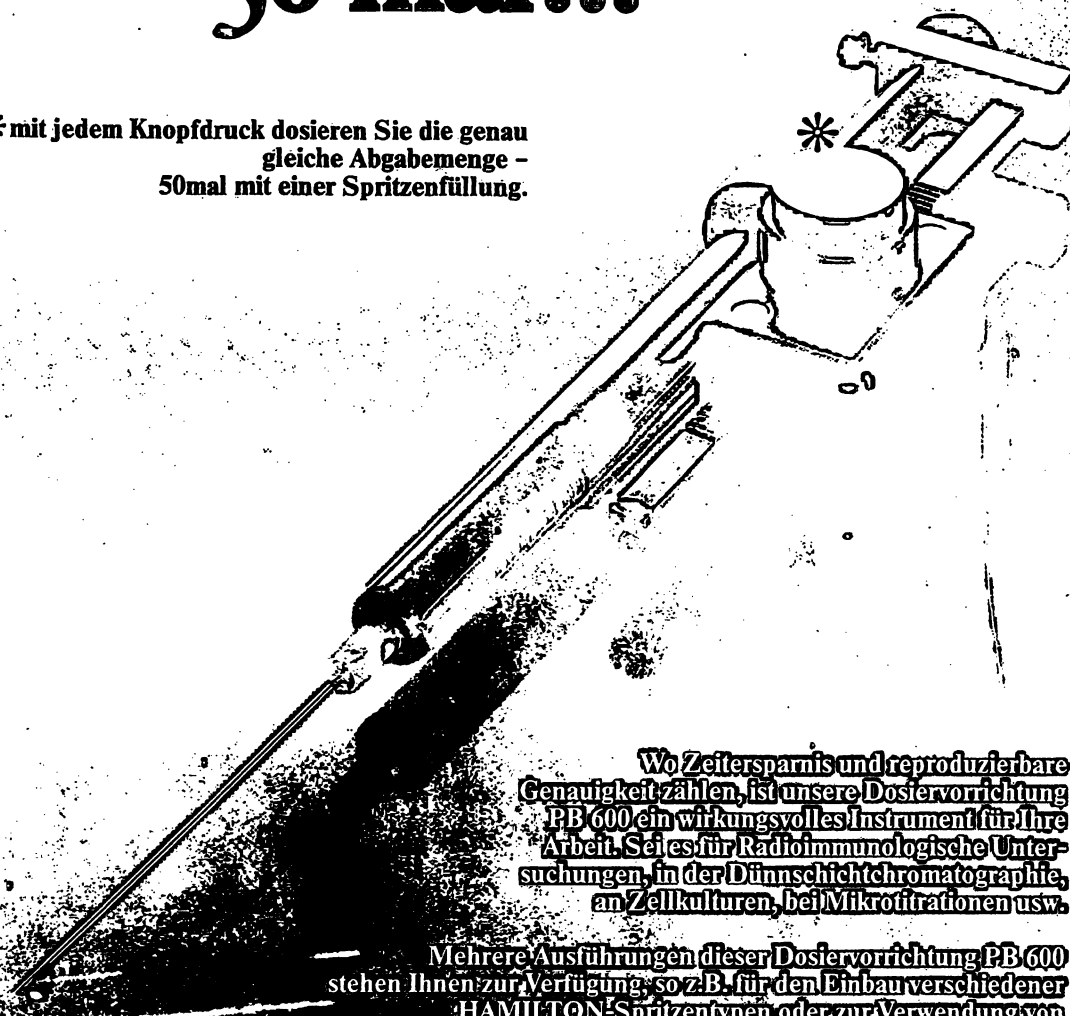
Da bei der Injektionsmethode für die Einzelmessung eines Elementes nur 100 μ l Serumverdünnung benötigt werden, sind für die Bestimmung der 4 Elemente mit Doppelmessungen weniger als 1 ml Serumverdünnung erforderlich. Das ergibt bei einer (1+50)-Verdünnung die minimale Ausgangsmenge von nur 20 μ l Serum. Selbst bei Injektionen von nur 50 μ l Serumverdünnung (entsprechend einem Gesamtverbrauch von 10 μ l Serum) reichen Empfindlichkeit und Meßgenauigkeit vielfach voll aus. Unter diesen Bedingungen wird die Flammen-AAS zu einer mechanisierten Mikro-Bestimmungsmethode für die Serumelektrolyte.

Ausführung

20 μ l (10 μ l) des zu untersuchenden Serums werden direkt in ein 1,5 ml-Gefäß des Probenwechslers pipettiert und mit 1 ml (500 μ l) einer handelsüblichen Verdünnungslösung nach Herrmann (0,1 mol/l Salzsäure, 0,02% Netzmittel; Merck/Darmstadt, Art.-Nr. 9975), die zusätzlich 2,5 g/l Sr^{2+} (als $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$) enthält, versetzt. Die Lösung wird durch kurzes Einleiten von Luft aus einer kleinen Kapillardüse durchmischt; unmittelbar danach werden die Gehalte der 4 Elemente gemessen (Peakhöhenmessung bereits in Konzentrationswerten).

50 mal...

* mit jedem Knopfdruck dosieren Sie die genau gleiche Abgabemenge - 50mal mit einer Spritzenfüllung.



Wo Zeitersparnis und reproduzierbare Genauigkeit zählen, ist unsere Dosiervorrichtung PB 600 ein wirkungsvolles Instrument für Ihre Arbeit. Sei es für Radioimmunologische Untersuchungen, in der Dünnschichtchromatographie, an Zellkulturen, bei Mikrotitrationsen usw.

Mehrere Ausführungen dieser Dosiervorrichtung PB 600 stehen Ihnen zur Verfügung, so z.B. für den Einbau verschiedener HAMILTON-Sprizentypen oder zur Verwendung von Wegwertspitzen. Auch zwischen verschiedenen Abgabemengen pro Knopfdruck können Sie wählen: je 1,5%, 2% oder 2,5% der Gesamtmenge.

Doch am besten verlangen Sie ausführliche Unterlagen. Bei Micromesure AG, CH-7402 Bonaduz, Schweiz, oder bei Ihrem HAMILTON-Vertreter.

HAMILTON

Ihr HAMILTON-Vertreter für die BRD:

GÜNTHER SCHMIDT

2 Hamburg 65 Postfach 650 280 Telefon 602 51 11/602 01 43 Telex 02 174 203

Lieferanten-Nachweis

• Autoklaven

HEINICKE INSTRUMENTS
Laborgerätebau GmbH
8225 Traunreut, Pf 1250
Ruf 0 86 69/40 49, FS 05-6556

• Bakteriologie

OTTO NORDWALD KG
2000 Hamburg 50, Heinrichstr. 5
Ruf 040/43 28 27

• Brutschränke

HEINICKE INSTRUMENTS
Laborgerätebau GmbH
8225 Traunreut, Pf 1250
Ruf 0 86 69/40 49, FS 05-6556

• Chromatographie-Pumpen

VERDER (DEUTSCHLAND) GMBH
4000 Düsseldorf, Luegallee 108
Ruf 02 11/57 40 79
FS: 0 85 85 539

• Digitale Verdünnungsgeräte

HAMILTON

Hamilton Deutschland GmbH
Postfach 11 04 27
Otto-Röhm-Str. 74
D-6100 Darmstadt
Ruf 0 61 51/8 50 85-86, FS 04 19 684

• Digitale Dispensiergeräte

HAMILTON

Hamilton Deutschland GmbH
Postfach 11 04 27
Otto-Röhm-Str. 74
D-6100 Darmstadt
Ruf 0 61 51/8 50 85-86, FS 04 19 684

• Elektrophorese

CARL ZEISS
7082 Oberkochen, Pf. 13 69

• Filterphotometer

CARL ZEISS
7082 Oberkochen, Pf. 13 69

• Flammenphotometer

CARL ZEISS
7082 Oberkochen, Pf. 13 69

• Gasdichte Spritzen

HAMILTON

Hamilton Deutschland GmbH
Postfach 11 04 27
Otto-Röhm-Str. 74
D-6100 Darmstadt
Ruf 0 61 51/8 50 85-86, FS 04 19 684

• Infrarot-Spektralphotometer

CARL ZEISS
7082 Oberkochen, Pf. 13 69

• Klinische Reagenzien

 **PIERCE EUROCHEMIE B.V.**
P.O. BOX 1151-ROTTERDAM THE NETHERLANDS
PHONE 01860-4822 - TELEX 21676

• Küvetten

HELLMA GMBH & CO.
7840 Mühlheim/Baden
Ruf 0 76 31/55 09 und 55 00
FS 07 72 987

• Küvetten-Absaugpumpen

HELLMA GMBH & CO.
7840 Mühlheim/Baden
Ruf 0 76 31/55 09 und 55 00
FS 07 72 987

• Küvetten-Reinigungsmittel

HELLMA GMBH & CO.
7840 Mühlheim/Baden
Ruf 0 76 31/55 09 und 55 00
FS 07 72 987

• Küvetten-Ständer

HELLMA GMBH & CO.
7840 Mühlheim/Baden
Ruf 0 76 31/55 09 und 55 00
FS 07 72 987

• Küvetten-Trocken- schleudern

HELLMA GMBH & CO.
78 40 Mühlheim/Baden
Ruf 0 76 31/55 09 und 55 00
FS 07 72 987

• Laborspülmittel

deconex®
*das umfassende Reinigungspro-
gramm für Labors aller Bereiche*

BORER CHEMIE AG
Zürcher Str. 125
Postfach 352
CH-8952 Schlieren-Zürich
Ruf (01) 7 30 15 35
Telex CH 54 031 SPONA

• Microliterspritzen®

HAMILTON

Hamilton Deutschland GmbH
Postfach 11 04 27
Otto-Röhm-Str. 74
D-6100 Darmstadt
Ruf 0 61 51/8 50 85-86, FS 04 19 684

• Mikroskope

HERTEL & REUSS
3500 Kassel, Quellhofstr. 67
Ruf 05 61/8 30 06

WILL WETZLAR KG
Optische Werke
Postfach 40
6331 Nauborn-Wetzlar
Ruf 0 64 41/2 30 71-4
CARL ZEISS
7082 Oberkochen, Pf. 13 69

• pH-Meßgeräte + pH-Glaselektroden

INGOLD pH-Meßtechnik
6000 Frankfurt 1
Postf. 3308, Ruf 06 11/29 53 01

• Photometer

CARL ZEISS
7082 Oberkochen, Pf. 13 69

• Polarimeter

CARL ZEISS
7082 Oberkochen, Pf. 13 69

• Radioaktive Stoffe

AMERSHAM BUCHLER
3300 Braunschweig, Postf. 1120
Ruf 0 53 07/46 93-97

• Reinigungsmittel

deconex®
*das umfassende Reinigungspro-
gramm für Labors aller Bereiche*

BORER CHEMIE AG
Zürcher Str. 125
Postfach 352
CH-8952 Schlieren-Zürich
Ruf (01) 7 30 15 35
Telex CH 54 031 SPONA

• Spektralphotometer

CARL ZEISS
7082 Oberkochen, Pf. 13 69

• Schlauchpumpen

VERDER (DEUTSCHLAND) GMBH
4000 Düsseldorf, Luegallee 108
Ruf 02 11/57 40 79, FS: 0 85 85 539

• Sterilisierpapiere

J.C. BINZER
3559 Hatzfeld
Ruf 0 64 67/3 18, FS: 04 82 224

• Trockenschränke

HEINICKE INSTRUMENTS
Laborgerätebau GmbH
8225 Traunreut, Pf 1250
Ruf 0 86 69/40 19, FS 05-6556

• Waschautomaten für Laborglas

HEINICKE INSTRUMENTS
Laborgerätebau GmbH
8225 Traunreut, Pf 1250
Ruf 0 86 69/40 49, FS 05-6556

• Zentrifugen

BERTHOLD HERMLE KG
7209 Gosheim, Postfach 1240
Ruf 0 74 26/ 10 61

Bei der benutzten Gerätekombination können die Meßwerte von insgesamt 3 verschiedenen Kalibrierlösungen sowie der Blindwert über einen Positionslesekopf in den Mikroprozessor des AAS-Gerätes eingelesen werden. Zur Kalibrierung verwendet man eine handelsübliche Bezugslösung für die flammenspektrometrische Serumanalyse (Merck, Darmstadt, Titrisol 9976). Die Bezugslösung wird mit Wasser vorverdünnt und zwar (1+4) für die Kalibrierlösung I bzw. (1+1) für die Kalibrierlösung II. Aus diesen beiden Lösungen sowie aus der unverdünnten Bezugslösung (Kalibrierlösung III) werden durch weiteres Verdünnen (1+50) mit der beschriebenen Verdünnungslösung die drei für die Kalibrierung der Serumanalyse benötigten Meßlösungen erstellt. Als Blindlösung (Nullwert) wird die strontiumhaltige Verdünnungslösung (s.o.) verwendet. Neben der Probenvorbereitung direkt in den Probenwechslergefäßen kann die Serumverdünnung natürlich auch aus einer größeren Serummenge (z.B. 200 µl Serum + 10 ml Verdünnungslösung) angesetzt werden.

Phosphatstörungen bei der Calcium-Bestimmung können durch Zusatz von Lanthan im allgemeinen besser eliminiert werden als durch den hier gewählten Strontiumzusatz. Dem Vorteil der geringeren chemischen Störung in der Flamme in Gegenwart von La^{3+} stehen allerdings die relativ hohen Calcium-Blindwerte beim Lanthan, eine aufwendigere Probenvorbereitung und ein wesentlich höherer Preis gegenüber. So darf das Serum nicht unmittelbar mit einer Lösung, die bereits Lanthan enthält, verdünnt werden, da das dreiwertige Kation rasch eine Koagulation des Eiweißes bewirkt. Deshalb wurden bei Vergleichsanalysen mit La^{3+} -Zusatz die 20 µl-Serumproben zunächst mit 900 µl der handelsüblichen Verdünnungslö-

sung nach Herrmann (s.o.) versetzt und erst dann 100 µl einer 50 g/l Lanthan (III)-chloridlösung zugefügt (5,86 g La_2O_3 in 16,9 ml konzentrierter Salzsäure gelöst und mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt).

Die unter Anwendung des beschriebenen Verfahrens erhaltenen Analyseergebnisse für 7 verschiedene Kontrollseren bei eingesetzten Probenmengen von 20 µl Serum und Zusatz von Strontium- bzw. Lanthan sind in den Tabellen 1 bis 4 zusammengestellt. Ein Vergleich der von uns ermittelten Werte mit den Referenzwerten der Kontrollseren zeigt, daß die in den Zertifikaten angegebenen Daten auch durch Atomabsorptionsspektrometrie mit der Injektionsmethode erhalten werden. Eine einzige Ausnahme macht die Natriumbestimmung in Monitrol II (Tab. 1), bei der auch nach häufiger Wiederholung kleinere Werte als zertifiziert gefunden wurden. Ein wesentlicher Unterschied zwischen der Verwendung eines Strontium- oder Lanthanzusatzes ist aus den Ergebnissen nicht zu erkennen. Eine Einschränkung ist allerdings erforderlich, die sich aus den Tabellen nicht erkennen läßt: Bei Lanthanzusatz ist die Calciumbestimmung wesentlich weniger von der Brennerhöhe abhängig als bei einem Sr^{2+} -Puffer. Bei den Elementen Na, K und Mg wurde ein solcher Unterschied nicht beobachtet.

Tabelle 5 enthält Werte für den Variationskoeffizienten des gesamten Analysenverfahrens (VK; %). Bei Ausgangsmengen von 200 µl Serum und 100 µl-Injektionen streuen die Werte für alle 4 Elemente um etwa 2 %. Auch mit 50 µl-Injektionen, aber gleicher Serum-Ausgangsmenge, werden Variationskoeffizienten von dieser Größe gefunden. Wird dagegen von insgesamt nur 20 µl Serum ausgegangen, so steigt der Variationskoeffizient auf etwa 3 %

Tab. 1. Natriumbestimmung in Kontrollseren

Kontrollserum	Atomabsorption			Flammenemission	Referenzwerte [mmol/l]
	200 µl Serum + 10 ml Verdünnungs- lösung (2,5g/l Sr^{2+}) [mmol/l]	+ 1 ml Verdünnungs- lösung (2,5g/l Sr^{2+}) [mmol/l]	20 µl Serum + 1 ml Verdünnungs- lösung (5g/l La^{3+}) [mmol/l]	15 µl Serum + 3 ml Verdünnungs- lösung (2,5g/l Sr^{2+}) [mmol/l]	
Monitrol I	140	138	144	140	140, 139 138, 133 140
Monitrol II	129	126	133	137	137,5 141 140
Precilip	137	137	136	132	136
Precinorm U	139	137	141	138	140, 136
Precinorm S	140	144	144	145	142, 143 136
Precipath S	105	106	104	105	104, 105 102
Cation-Cal	155	161	163	155	158

Tab. 2. Kaliumbestimmung in Kontrollseren

Kontrollserum	Atomabsorption			Flammenemission	Referenzwerte	
	200 µl Serum + 10 ml Verdünnungs- lösung (2,5g/l Sr ²⁺) [mmol/l]	20 µl Serum + 1 ml Verdünnungs- lösung (2,5g/l Sr ²⁺) [mmol/l]	20 µl Serum + 1 ml Verdünnungs- lösung (2,5g/l La ³⁺) [mmol/l]	15 µl Serum + 3 ml Verdünnungs- lösung (2,5g/l Sr ²⁺) [mmol/l]	[mmol/l]	
Monitrol I	4,20	4,12	4,16	4,18	4,05 4,00 4,20	4,00 4,00 4,20
Monitrol II	6,04	5,87	5,64	5,81	5,8	6,1
Precilip	4,13	4,04	4,07	4,32	4,14	
Precinorm U	3,65	3,71	3,71	3,68	3,90	3,67
Precinorm S	5,26	5,46	5,20	5,21	5,40 4,93	5,20 4,93
Precipath S	6,98	7,11	7,11	7,00	7,14	6,97 6,74
Cation-Cal	5,98	6,04	6,30	6,11	6,2	

Tab. 3. Magnesiumbestimmung in Kontrollseren

Kontroll- serum	200 µl Serum + 10 ml Ver- dünnungs- lösung (2,5g/l Sr ²⁺) [mmol/l]	20 µl Serum + 1 ml Ver- dünnungs- lösung (2,5g/l Sr ²⁺) [mmol/l]	20 µl Serum + 1 ml Ver- dünnungs- lösung (5g/l La ³⁺) [mmol/l]	Referenz- werte [mmol/l]	
	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	
Monitrol I	0,95	0,96	0,98	1,00	1,05
Monitrol II	1,82	1,86	1,86	1,88	1,85
Precilip	0,83	0,83	0,84	0,92	0,88
Precinorm U	0,83	0,86	0,88	0,82	0,93
Precinorm S	1,00	1,00	1,07	1,00	1,00
Precipath S	1,54	1,57	1,66	1,60	1,34
Cation-Cal	2,78	2,86	3,00	2,85	

an. Auch hier bewirkt die Verwendung eines kleineren Injektionsvolumens (50 µl) gegenüber 100 µl keine Verschlechterung. Man darf wohl annehmen, daß die Streuung des Verfahrens hauptsächlich durch die schlechtere Reproduzierbarkeit der Pipettierung kleinerer Serum-Volumina bedingt ist. Die Reproduzierbarkeit des reinen Meßvorganges (Mehrfachmessungen aus ein und derselben Lösung) beträgt durchweg etwa 1 %.

2. Bestimmung von Na und K in Flammenemission

Die übliche Methode für die Bestimmung von Na und K in Serum ist die Flammenphotometrie, also die Mes-

Tab. 4. Calciumbestimmung in Kontrollseren

Kontroll- serum	200 µl Serum + 10 ml Ver- dünnungs- lösung (2,5g/l Sr ²⁺) [mmol/l]	20 µl Serum + 1 ml Ver- dünnungs- lösung (2,5g/l Sr ²⁺) [mmol/l]	20 µl Serum + 1 ml Ver- dünnungs- lösung (5g/l La ³⁺) [mmol/l]	Referenz- werte [mmol/l]	
	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	
Monitrol I	2,37	2,48	2,41	2,38 2,30 2,25 2,58	2,25 2,25 2,35 2,50
Monitrol II	2,00	2,00	1,99	2,03 2,00	1,98 2,10
Precilip	2,17	2,02	2,08	2,11	2,09 2,04
Precinorm S	2,54	2,64	2,48	2,55 2,48	2,50 2,43
Precipath S	2,01	2,06	1,97	2,06 1,88	1,84 1,84
Cation-Cal	2,80	3,04	2,81	2,9	

sung in Emission. Die meisten heute im Handel erhältlichen AAS-Geräte sind auch für Flammenemissionsmessungen ausgestattet. Da die Injektionsmethode nur eine Variante der Probenaufgabe im Bereich der Lösungsspektalanalyse ist, kann sie – wie in Atomabsorption – natürlich auch bei Messungen in Emission eingesetzt werden.

Zur flammenphotometrischen Bestimmung von Natrium und Kalium werden im allgemeinen (1+200)-Verdünnungen des Serums verwendet. Um den Pipettierfehler klein zu halten, gingen wir dabei von 15 µl Serum aus, die mit 3 ml Verdünnungslösung

nach Herrmann versetzt wurden. Zur Unterdrückung von Ionisationsinterferenzen wurde die Verdünnungslösung auch hier mit 2,5 g/l Sr^{2+} versetzt. Zur Natrium-Bestimmung wurde aus dem Duplett 589,59/588,99 nm nur die Linie bei 589,59 nm benutzt. Um Störungen der Bestimmung durch Selbstabsorption des emittierten Lichtes zu vermeiden, wurde der Brenner des AAS-Gerätes bei diesen Messungen „quergestellt“.

Mit der beschriebenen Arbeitstechnik und den in Tabelle 6 angegebenen Gerätedaten wurden die in den Tabellen 1 und 2 unter „Flammenemission“ angegebenen Analysergebnisse erhalten. Sie stimmen im Rahmen der Standardabweichung mit den zugehörigen Werten aus den Absorptionsmessungen sowie mit den Referenzwerten gut überein.

Zur Kalibrierung wurde auch hier eine handelsübliche Bezugslösung (bzw. entsprechende Verdünnungen; s. 1.) eingesetzt. Wegen des hohen Nachweisvermögens der Bestimmungsmethode kann die Ausgangsmenge des Serums auf wenige Mikroliter herabgesetzt werden. Um dies zu demonstrieren, wurden Volumina von nur je 5 μl Serum direkt in den Gefäßen des Probenwechslers mit je 1 ml Verdünnungslösung versetzt; Na und K wurden dann mit je zwei 100 μl -Injektionen bzw. je zwei 50 μl -Injektionen bestimmt. Der Variationskoeffizient für diese Mikromethode beträgt etwa 5 % (Tab. 5). Sie wird auch hier vor allem durch die weniger gut zu reproduzierende Pipettierung der kleinen Serummengen bedingt: Vergleicht man die Variationskoeffizienten der Analysen mit 5 μl Serum mit denen von 15 μl als Ausgangsmenge, so sieht man deutlich eine Verringerung der Streuung mit zunehmendem Pipettivolumen (Tab. 5). Bei der Natriumbe-

Tab. 5. Variationskoeffizient (VK) in [%] (N=15) für die Elektrolytbestimmungen in Atomabsorption und Flammenemission.

	Bestimmungsart	Na	K	Mg	Ca
		VK[%]	VK[%]	VK[%]	VK[%]
Atomabsorption	200 μl Serum + 10 ml Verdünnungslösung				
	100 μl -Injektionen	1,8	2,2	1,9	1,2
	50 μl -Injektionen	2,5	2,0	1,9	1,8
	20 μl Serum + 1 ml Verdünnungslösung				
	100 μl -Injektionen	3,4	3,0	2,5	2,8
	50 μl -Injektionen	3,4	3,1	2,7	3,1
Flammenemission	15 μl Serum + 3 ml Verdünnungslösung				
	100 μl -Injektionen	2,7	2,4	—	—
	50 μl -Injektionen	3,2	2,9	—	—
	5 μl Serum + 1 ml Verdünnungslösung				
	100 μl -Injektionen	4,4	5,4	—	—
	50 μl -Injektionen	4,9	5,7	—	—

stimmung ist mit 5 μl Ausgangsvolumen die Grenze des Verfahrens erreicht, da eine Streuung der Werte von etwa 5 % bereits die Größenordnung der biologischen Schwankung erreicht.

3. Bestimmung von Lithium im therapeutischen Bereich durch Atomabsorption und -emission

Die Bestimmung von Lithium kann ebenso wie die von Natrium oder Kalium in Atomabsorption oder -Emission erfolgen. Das bei der Bestimmung der anderen Elemente als spektroskopischer Puffer benutzte Strontiumsalz kann wegen des intensiven Bandenspektrums von $\text{Sr}(\text{OH})_2$ (6) im Bereich der interessierenden Li-Emissionslinie (670,78 nm) bei dieser Bestimmung nicht verwendet werden. In der Flammenphotometrie verbietet sich häufig auch der Einsatz von CsCl als Puffer, da Cäsium nur 1,5 nm von der Analysenlinie entfernt, ebenfalls eine intensive Linie besitzt (7). Dieser geringe Linienabstand läßt sich z.B. durch ein mit Filtern ausgerüstetes Flammenphotometer nicht trennen; für den Monochromator eines AAS-Gerätes ist der Abstand jedoch bereits so groß, daß von einem CsCl-Puffer keine spektralen Interferenzen bei der Li-Bestimmung zu erwarten sind.

Für Analysen in Atomabsorption werden 20 μl Serum mit 400 μl Verdünnungslösung nach Herrmann (s. 1.), die zusätzlich 0,5 % CsCl enthält, direkt in einem Gefäß des Probenwechslers gemischt und mit je zwei 100 μl -Injektionen gemessen. Zur Messung in Emission wird ebenfalls von 20 μl Serum ausgegangen, die jedoch mit 1 ml Verdünnungslösung versetzt werden. Die Kalibrierung wird in beiden Fällen mit Lithium-Spurenlösungen vorgenommen, die mit der Verdünnungslösung im Verhältnis 1+20 (Atomabsorption) bzw. 1+50 (Atomemission) versetzt werden (z.B. 500 μl einer $20 \cdot 10^{-6}$ Li-Spurenlösung + 25 ml Verdünnungslösung für die Messungen in Atomemission, entsprechend einer Li-Konzentration im Serum von 20 mg/l bzw. 2,882 mmol/l). Für die Überprüfung der Richtigkeit standen 5 Kontrollseren zur Verfügung.

Tabelle 7 zeigt die mit beiden Methoden – Atomabsorption und Flammenemission – gefundenen Gehalte im Vergleich zu den Referenzwerten der Kontrollseren. Die Werte stimmen in allen Fällen mit den Zertifikatswerten gut überein. Der Variationskoeffizient (VK; %)

Tab. 6. Benutzte Wellenlängen und Spaltbreiten für die Bestimmung der Elemente in Atomabsorption und Flammenemission

	Element	Wellenlänge [nm]	Spaltbreite [nm]	Brennerstellung
Atomabsorption	Li	670,78	0,2	normal
	Na	330,23*	0,7	normal
		330,30*		
	K	796,90	0,7	normal
	Mg	285,21	0,7	normal
	Ca	422,67	0,7	normal
Flammenemission	Li	670,78	0,7	quer
	Na	589,59	0,2	quer
	K	766,49	0,7	quer

* Nicht aufgelöstes Duplett

Tab. 7. Lithiumbestimmung in Kontrollseren

Kontrollserum	Atomabsorp- tion	Flammen- emission	Referenz- werte	
	20 µl Serum + 400 µl Ver- dünnungslö- sung [mmol/l]	20 µl Serum + 1 ml Ver- dünnungslö- sung [mmol/l]	[mmol/l]	
Monitrol I	0,50	0,47	0,49	0,48
Monitrol II	1,82	1,85	1,90	1,82
Precinorm U	1,82	1,73	1,78	
Precinorm S	1,81	1,73	1,80	1,77
Cation-Cal	2,01	1,94	2,0	
	VK[%]	VK[%]		
100 µl Injektionen	2,3	2,3		
50 µl Injektionen	2,4	2,8		

für 100 µl- oder 50 µl-Injektionen liegt jeweils bei etwa 2,5 %. Ein Unterschied zwischen Absorptions- und Emissionsmessung ist nicht festzustellen.

Für die Lithium-Bestimmung anhand von zwei 50 µl-Injektionen benötigt man — einschließlich eines in den Probengefäßen jeweils verbleibenden Restvolumens an Serumverdünnung — etwa 200 µl. Da die Meßlösung 1+50 verdünnt ist, enthält sie insgesamt nur 4 µl an Serum. Auch hier handelt es sich also um eine ausgesprochene Mikromethode.

Danksagung

Wir danken Fr. E. Reiter für die Ausführung umfangreicher Meßreihen.

Literatur

- Berndt, H. & Jackwerth, E. (1975), *Spectrochim. Acta* 30B, 169–177.
- Sebastiani, E., Ohls, K. & Riemer, G. (1973), *Z. Anal. Chem.* 264, 105–109.
- Berndt, H. & Jackwerth, E. (1976), *At. Absorpt. Newsl.* 15, 109–113.
- Paschen, K. (1970), *Dtsch. Med. Wochenschr.* 95, 2570–2573.
- Welz, B. (1975), *Atomabsorptions-Spektrometrie*, Verlag Chemie/Weinheim, 2. Aufl. S. 204.
- Herrmann, R. & Alkemade C. Th. J. (1960), *Flammenphotometrie*, Springer-Verlag/Berlin, 2. Aufl., Registrierkurve 13.
- Harrison, G. R., (1950), *Wavelength Tables*, John Wiley and Sons, Inc., New York.

Dr. H. Berndt
Institut f. Spektrochemie
und angewandte Spektroskopie
Bunsen-Kirchhoff-Str. 11
4600 Dortmund